

五味子醇提液对糖尿病肾病小鼠氧化应激的保护作用及机制研究

董 奥¹, 谭小月², 孔 琪¹, 张勉之^{3*}

1. 天津医科大学研究生院, 天津 300070

2. 南开大学医学院, 天津 300071

3. 天津市中医药研究院, 天津 300022

摘要: 目的 探讨五味子醇提液 (SE) 对自发型 2 型糖尿病 C57BLKS/Jdb/db (db/db) 小鼠氧化应激的保护作用及机制。方法 选取 10 只 9 周龄雄性 db/m 小鼠和 10 只同周龄同源雄性 db/db 小鼠随机分为对照组、SE 对照组、模型组、SE 治疗组, 每组 5 只。SE 对照组和治疗组分别以 SE 5 mg/kg ig 给药, 连续给药 6 周。在 0、3、6 周记录体质量、血糖及 24 h 尿微量白蛋白, 6 周后处死小鼠, 收集肾组织标本。脂质过氧化试剂盒测定氧化应激指标丙二醛 (MDA) 含量, 过碘酸雪夫 (PAS) 染色观察肾组织病理变化, Western blotting 法检测抗氧化因子核因子红细胞衍生 2 相关因子 2 (Nrf2) 及血红素氧合酶-1 (HO-1) 蛋白表达, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测 Nrf2 及其下游靶基因的表达。结果 与对照组相比, 模型组小鼠体质量、血糖和 24 h 尿微量白蛋白明显升高, MDA 含量增加, Nrf2、HO-1 及其下游靶基因表达下降 ($P < 0.05$ 、 0.01)。SE 能够降低糖尿病肾病小鼠血糖、24 h 尿微量白蛋白和 MDA 水平, 改善肾组织病理损伤, 上调 Nrf2、HO-1 及其下游靶基因表达 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 SE 对 db/db 小鼠氧化应激损伤有一定的保护作用, 其机制可能与上调抗氧化因子 Nrf2 及其下游基因有关。

关键词: 五味子醇提液; 糖尿病肾病; C57BLKS/Jdb/db 小鼠; 氧化应激; Nrf2

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)24-6038-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.24.018

Protective effect and mechanism of *Schisandra chinensis* extract on oxidative stress in diabetic nephropathy mice

DONG Ao¹, TAN Xiao-yue², KONG Qi¹, ZHANG Mian-zhi³

1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Medical School of Nankai University, Tianjin 300071, China

3. Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300022, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect of *Schisandra chinensis* extract on oxidative stress in db/db mice, and to explore its possible mechanism. **Methods** Ten male 9-week-old db/m mice and ten homologous male db/db mice of the same age were randomly divided into normal control group (C + V group), *S. chinensis* extract control group (C + SE group), model group (DN + V group), and *S. chinensis* extract-treated group (DN + SE group), with five mice in each group. The *S. chinensis* extract control group and *S. chinensis* extract-treated group were respectively ig administrated with 5 mg/(kg·d) of *S. chinensis* extract for 6 weeks. The body weight, blood glucose and 24 h urine micro-albumin were recorded at 0, 3, and 6 weeks. After 6 weeks, the mice were sacrificed and their kidney tissue specimens were collected. The oxidative stress index of malondialdehyde (MDA) were examined by lipid peroxidation kit. The pathological changes of kidney tissues were observed by PAS staining. The expression of antioxidant factor Nrf2 and HO-1 protein of kidney tissue was detected by Western Blotting. The expression of Nrf2 and its downstream target genes of kidney tissue were detected by qRT-PCR. **Results** Compared with the normal control group, the body weight, blood glucose and 24h urine micro-albumin of the model group were significantly increased and the MDA content were increased. Therefore, the renal tissue pathological damage aggravated, and the expression of Nrf2 and HO-1, as well as its downstream target genes were all down-

收稿日期: 2019-05-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (NSFC81150012)

作者简介: 董 奥 (1994—), 在读硕士研究生。Tel: 18822150518 E-mail: 18364168314@163.com

*通信作者 张勉之 (1973—), 男, 主任医师, 博士生导师, 教授, 主要从事中西医结合肾脏病的基础与临床研究。

Tel: (022)27285928 E-mail: zhangmianzhi@vip.sina.com

regulated. ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). *S. chinensis* extract reduced blood glucose, 24 h urine micro-albumin and MDA level in diabetic nephropathy mice, improved renal pathological damage, and up-regulated Nrf2 and HO-1 and its downstream target gene expression. ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion** *S. chinensis* extract has protective effect on oxidative stress injury in db/db mice, and its mechanism may be related to up-regulation of antioxidant factor Nrf2 and its downstream genes.

Key words: *Schisandra chinensis* extract; diabetic nephropathy; C57BLKS/Jdb/db mice; oxidative stress; Nrf2

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病致死率最高的微血管并发症, 也是导致终末期肾病的主要原因^[1]。DN 的主要病理特征为肾小球基底膜增厚、细胞外基质和系膜扩张、肾小球硬化伴有不同程度的肾间质和肾小管损害^[2]。DN 的发病机制包括肾素-血管紧张素-醛固酮 (RAAS) 激活导致的血流动力学异常和血流变因素、糖代谢紊乱、糖基化终产物、各种生长因子及细胞因子、氧化应激反应、遗传因素等^[3]。其中, 高血糖导致的氧化应激起了关键作用。有研究表明^[4], 核因子红细胞衍生 2 相关因子/血红素氧合酶 (Nrf2/HO-1) 是细胞内抗氧化应激最重要的通路之一。

五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 是传统中药, 具有益气生津、敛肺补心、收敛固涩等功效^[5]。现代药理研究表明, 其具有抗氧化、保护肝肾、抗肿瘤、抗炎等作用^[6-7]。五味子醇提液 (*Schisandra chinensis* extract, SE) 是将五味子用 95% 乙醇加热回流提取而成, 其含有多种有效成分, 如五味子乙素、五味子甲素、五味子酯甲等。已有研究表明^[8], SE 能够减轻链脲佐菌素 (STZ) 诱导的 DN 小鼠的肾脏纤维化水平。但其对于 DN 氧化应激影响的研究较少。本研究以 db/db 小鼠为 DN 模型, 旨在探讨 SE 对 DN 小鼠氧化应激的保护作用及对 Nrf2/HO-1 抗氧化通路的影响。

1 材料

1.1 实验动物

自发型 2 型糖尿病 C57BLKS/Jdb/db 小鼠 (db/db) 10 只, 雄性, 9 周龄, 体质量 (35.10 ± 1.41) g ($33 \sim 37$ g), 同遗传背景的 C57BLKS/Jdb/+ 小鼠 (db/m) 10 只, 雄性, 9 周龄, 体质量 (19.84 ± 1.18) g ($18 \sim 22$ g), 购自南京大学模式动物研究所, 许可证号 SCXK (苏) 2018-0008。本研究已通过南开大学动物护理与使用委员会批准。

1.2 药物与试剂

五味子 (天津市中药饮片厂有限公司, 批号 1806038-01), 经天津市医药科学研究所贾淑杰主任技师鉴定为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis*

(Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实; 小鼠尿微量白蛋白 ELISA 试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司); 丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (北京碧云天生物科技有限公司); 过碘酸雪夫 (PAS) 染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司); 反转录试剂盒、PCR 试剂盒 (北京全式金生物技术有限公司); PCR 引物 (北京六合华大基因科技有限公司); 兔抗 Nrf2 多克隆抗体、兔抗 HO-1 多克隆抗体、兔抗 β -actin 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 二抗 (北京中杉金桥生物技术有限公司); 自行配制 TBST 缓冲液、5% 牛奶封闭液、1×RIPA 蛋白裂解液、5×SDS、1×Running、1×Transfer。

1.3 主要仪器

血糖仪、血糖试纸 (罗氏血糖健康医护公司); 台式高速低温离心机、酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); SCIENTZ-48 高通量组织研磨器 (宁波新芝生物科技股份有限公司); 超微量分光光度计 (上海析谱仪器有限公司); PCR 仪、琼脂糖凝胶电泳及成像系统、SDS-PAGE 电泳仪与转膜系统 (美国 Bio-Rad 公司); 电热恒温金属浴 (杭州奥盛仪器有限公司); 恒温水浴锅 (天津化工有限公司); 脱色摇床 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司); 石蜡切片机 (德国 Leica 公司); CX31 正置显微镜 (日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 动物分组

10 只 C57BLKS/Jdb/db 小鼠和 10 只 db/m 小鼠在温度 (22 ± 2) °C, 相对湿度 (60 ± 10) %, 保持 12 h 光照/12 h 黑暗交替的动物房中进行饲养, 并保证相同自由饮水和常规饲料喂养, 每 2 天更换 1 次垫料。顺应性喂养 1 周后, 称体质量并测血糖, C57BLKS/Jdb/+ 小鼠随机分为对照组和 SE 对照组, C57BLKS/Jdb/db 小鼠随机分为模型组和 SE 治疗组, 每组 5 只。

2.2 药物制备

按照 Zhang 等^[8]的方法和步骤, 用乙醇循环萃取法制备 SE, 五味子 100 g 用 95% 乙醇每次加热回

流 3 h, 共提取 2 次, 合并 2 次提取液, 静置滤过, 减压回收乙醇浓缩成浸膏, 4 °C 保存, 实验时稀释最终得到含生药 1 mg/mL 的 SE (经高效液相色谱分析, SE 中五味子甲素和五味子乙素的质量分数分别为 1.38% 和 1.46%^[8])。

2.3 给药方法

小鼠 10 周龄时开始 ig 给药, SE 对照组与 SE 治疗组给予 5 mg/kg^[8] 的 SE (给药前将 SE 放至室温, 混匀后备用), 对照组与模型组 ig 等量双蒸水, 每天 1 次, 连续给药 6 周。

2.4 标本采集及处理

从实验开始, 每 3 周测定小鼠体质量、血糖, 并将其放入代谢笼中收集尿液。6 周后, 处死小鼠, 取出双肾, 去除周围血管脂肪及包膜, 称取肾脏质量, 取每个肾脏上段放于 4% 多聚甲醛中固定 48 h 后进行脱蜡、包埋和切片, 取中段用 OCT 包埋行冰冻切片, 剩余肾脏组织切取小块后放入 -80 °C 冰箱用于核酸和蛋白的检测。

2.5 一般指标测定

将收集的小鼠尿液放入 4 °C 离心机, 1.2×10^4

r/min 离心 30 min, 取上清去沉淀, 根据 ELISA 试剂盒进行尿微量白蛋白检测。

2.6 MDA 检测

取一小块肾组织称质量并放入 EP 管中, 加入 RIPA 裂解液, 放入高通量组织研磨器中进行研磨, 制成肾组织匀浆, 根据 MDA 试剂盒进行检测。

2.7 PAS 染色

将包埋后的肾组织切成 4 μm 薄片进行脱蜡, 按照 PAS 试剂盒进行染色, 染色后脱水并用中性树脂封片保存。在光镜 20 倍下进行观察并拍照, 每只小鼠选取 5 个典型视野进行统计分析, 以系膜基质百分比为依据进行肾小球损伤评分。

2.8 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测相关基因表达

取相同大小的肾组织放入 EP 管中, 加入 Trizol 和小钢珠, 放入高通量组织研磨器中进行研磨, 取出后根据 RNA 提取步骤进行操作, 提取 RNA 后用超微量分光光度计测 RNA 浓度, 进行逆转录 (20 μL 体系) 合成 cDNA, 用 PCR 仪进行 PCR, 对扩增出的 DNA 片段进行琼脂糖凝胶电泳检测并成像。结果以目的基因与 β-actin 的相对表达量表示。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of qRT-PCR

目的基因	上游引物序列 (5'→3')	下游引物序列 (5'→3')
Nrf2	CTGGCTGATACTACCGCTGTT	GTGGAGAGGATGCTGCTGAA
HO-1	ACCGCCTTCCTGCTCAACATT	CTCTGACGAAGTGACGCCATCT
GCLM	CGCCTCCGATTGAAGATG	GCTGCTCCAAGTGTGTCT
SOD	GTTCCACGTCCATCAG	TCCTTCCAGCAGTCA

2.9 Western blotting 检测相关蛋白表达

取相同大小的肾组织放入 EP 管中, 加入 RIPA 裂解液和小钢珠, 放入高通量组织研磨器中进行研磨, 冰上静置 1 h 后, 放入 4 °C 离心机中, 1.2×10^4 r/min 离心 10 min。取上清放入新的 EP 管, 进行 BCA 蛋白定量、煮蛋白。配制 10% SDS-PAGE 凝胶, 经过上样、电泳、转膜、封闭后, 进行剪膜, 加入特异性一抗, 4 °C 孵育过夜; TBST 洗膜后, 加入与一抗对应来源的二抗室温慢摇 1 h, 再用 TBST 洗, 用 ECL 发光液进行显色, 化学发光成像仪曝光。Image J 进行灰度分析。

2.10 统计学方法

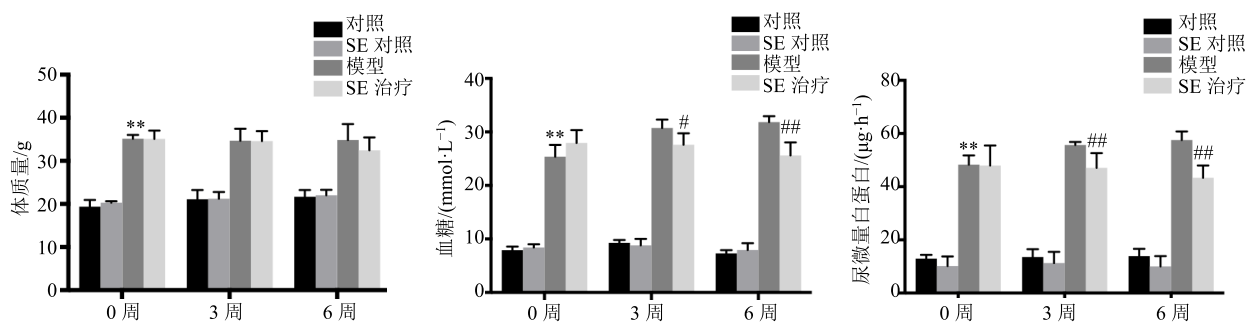
所有计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 22.0 统计软件进行实验相关数据的分析, 采用 GraphPad

Prism 7.0 进行作图。各组之间比较采用单因素方差分析, 若方差齐性不成立, 则选取 Tamhane T2 检验; 若方差齐性成立, 选取 LSD 检验。

3 结果

3.1 各组小鼠体质量、血糖、24 h 尿微量白蛋白测定结果

结果如图 1 所示, 在实验 0 周时, 与对照组相比, 模型组小鼠体质量、血糖和 24 h 尿微量白蛋白均显著增高 ($P < 0.01$); SE 对照组与对照组比较, 体质量、血糖和 24 h 尿微量白蛋白水平差异不显著; 在 3、6 周时, SE 治疗组的血糖和 24 h 尿微量白蛋白水平明显低于模型组 ($P < 0.05$ 、 0.01), 但 SE 治疗组与模型组比较, 小鼠体质量无明显变化; 对照组与 SE 对照组小鼠体质量亦无明显差异。



与对照组比较: ** $P < 0.01$, 与同时期的模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 下图同
 ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group at the same time, same as following figures

图 1 各组小鼠体质量、血糖和 24 h 尿微量白蛋白比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 1 Comparison on body weight, blood glucose, and 24 h urine micro-albumin of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.2 氧化应激指标

结果如图 2 所示, 与对照组相比, 模型组的 MDA 显著升高 ($P < 0.01$); SE 对照组 MDA 水平与对照组比较差异不显著; 与模型组相比, SE 治疗组的 MDA 水平显著降低 ($P < 0.01$)。

3.3 PAS 染色观察肾组织病理改变

PAS 染色 (图 3) 显示, 对照组和 SE 对照组的肾小球、肾小管大小和形态均无明显变化。模型组可见肾小球明显增大, 系膜细胞增生、基质增宽, 肾小球基底膜增厚; 肾小管管腔扩张、肾小管上皮

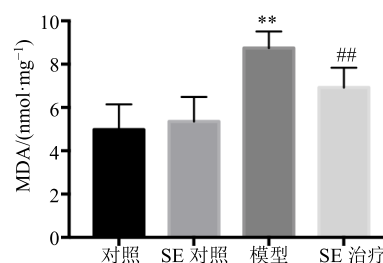


图 2 各组小鼠 MDA 水平 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 MDA levels of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

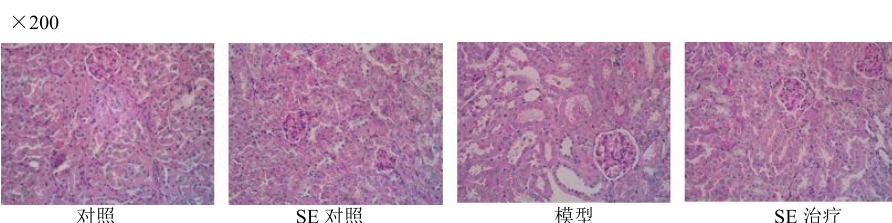


图 3 各组小鼠肾组织病理形态学改变 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Pathological changes of kidneys of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

细胞脱落, 出现蛋白管型等, SE 治疗组上述病理改变均有明显改善。肾小球损伤指数显示, 与对照组比较, 模型组肾组织损伤加重 ($P < 0.01$); 与模型组相比, SE 治疗组肾组织损伤减轻 ($P < 0.01$)。

3.4 各组小鼠肾组织 Nrf2、HO-1、GCLM、SOD 的表达

RT-PCR 结果 (图 4) 显示, 与对照组相比, 模型组 Nrf2、HO-1、GCLM、SOD 的 mRNA 水平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组相比, SE 治疗组能显著上调这些抗氧化因子的表达 ($P < 0.01$), 对照组

与 SE 对照组无明显差异。

3.5 各组小鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白的表达

Western blotting 结果 (图 5) 显示, 与对照组相比, 模型组 Nrf2、HO-1 蛋白水平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组相比, SE 治疗组显著上调了 Nrf2、HO-1 的蛋白表达量 ($P < 0.01$), 对照组与 SE 对照组无明显差异。

4 讨论

DN 是在糖尿病病程中出现的以蛋白尿、高血压、水肿、肾功能不全等肾脏病变为特征的疾病,

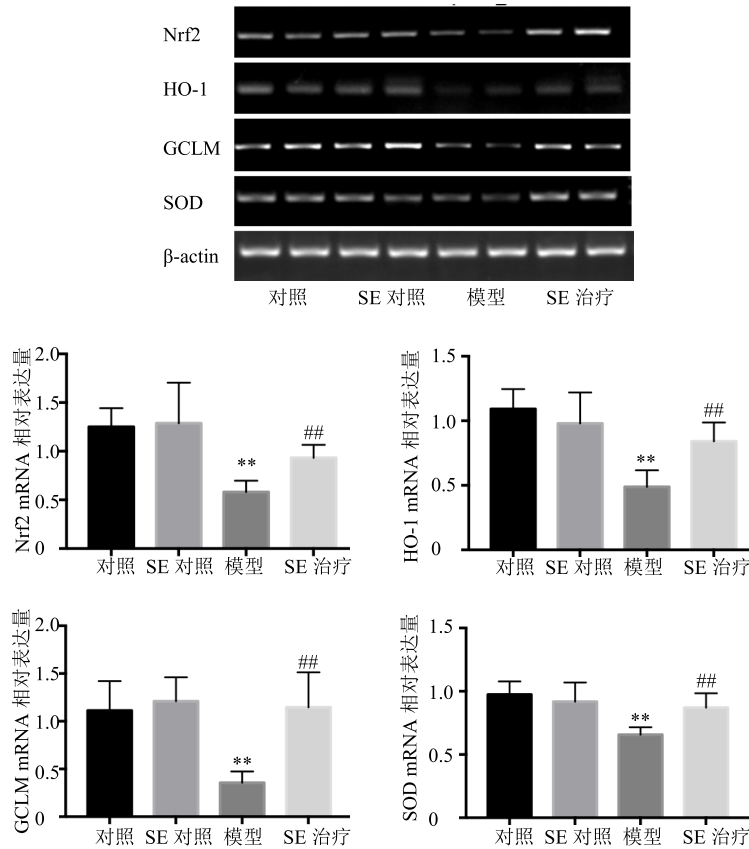


图 4 各组小鼠肾组织中 Nrf2、HO-1、GCLM、SOD mRNA 的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 4 mRNA expression of Nrf2, HO-1, GCLM, and SOD in kidney tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

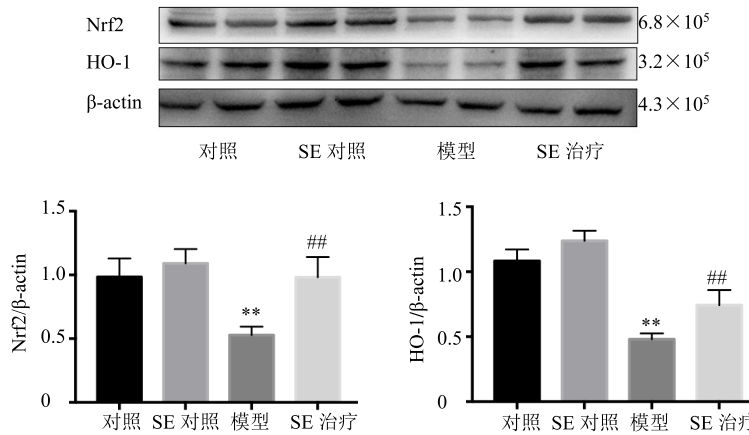


图 5 各组小鼠肾组织中 Nrf2、HO-1 蛋白的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 5 Protein expression of Nrf2 and HO-1 in kidney tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

其早期临床表现为肾小球高滤过率，尿微量白蛋白排泄率正常，随着病情进展，出现微量白蛋白尿、甚至大量蛋白尿、肾小球滤过率下降，最终导致肾功能不可逆损害，形成终末期肾病^[9]。DN 发病机制复杂，已有研究证明，高血糖引起的活性氧 (ROS) 增多是其发展的关键因素之一^[10]。氧化应激在 DN 的

发病过程中充当着触发器、连接器和调节器，如 ROS 增多可以激活肾素-血管紧张素系统和 TGF-β 信号转导通路，导致炎症、肾小球肥大和肾脏纤维化^[11-12]。DN 的治疗方法主要是降低血糖、使用肾素-血管紧张素抑制剂降低血压、终末期行肾脏替代治疗等。但这些治疗方法对 DN 的疗效是有限的，而临床中显示

中药治疗 DN 疗效较好, 探讨中药对 DN 的保护机制成为研究的新思路。db/db 小鼠是瘦素受体基因敲除的自发肥胖性 2 型糖尿病肾病模型鼠, 在 6~10 周龄时迅速发生高血糖症, 在 8~25 周龄时出现中度至重度白蛋白尿, 小鼠肾脏发生进行性组织学改变, 包括肾小球基底增厚, 肾小球系膜基质扩张^[13-14]。其病程进展与人类相似, 是一种良好的研究 DN 的动物模型。所以本实验采用 db/db 小鼠为动物模型, 探讨 SE 对 DN 的保护作用。

氧化应激是指在各种病理状态下 (如高血糖、应激等), 抗氧化系统受到抑制, 机体产生的过量的 ROS 无法被及时清除, 使蛋白质、脂质、核酸等受到损伤, 导致蛋白质变性和脂质过氧化^[15]。MDA 是脂质过氧化的终产物, 是反应组织 ROS 水平和细胞氧化损伤程度的指标之一^[16]。Nrf2 是抗氧化应激反应重要的细胞防御通路和调节因子。有研究证明, 其参与了肾脏损害的进程^[17]。Nrf2 在细胞质中与 Keap1 蛋白相互作用, Keap1 在调节 Nrf2 的定位, Nrf2 的降解在感知氧化刺激中发挥关键作用^[18]。在生理状态下, Nrf2 与 Keap1 结合于细胞质中, 经泛素化降解保持稳定浓度。受到氧化损伤后, Nrf2 与 Keap1 解偶连, Nrf2 入核与抗氧化反应元件 (ARE) 结合, 调控其下游抗氧化酶的表达^[19]。HO-1 是 Nrf2 激活介导的主要抗氧化酶类, Nrf2/HO-1 信号可调节氧化介质中 SOD、CAT、GCLM 等的表达。如果氧化损伤过于严重, Nrf2 介导的保护机制被过量的 ROS 饱和会使 Nrf2 表达下降, 这可能是通过增强其泛素化降解来实现的^[15,20]。Nrf2 激活剂如姜黄素、白藜芦醇等都可以通过上调 Nrf2 的表达减弱 DN 小鼠的氧化应激反应^[21-22]。也有研究证实^[23], Nrf2 基因敲除鼠用 STZ 诱导 DN 后, 其氧化应激损伤要远高于野生对照组小鼠。在本研究中, 与对照组相比, 模型组小鼠肾组织匀浆中的 MDA 含量明显增多, 说明糖尿病小鼠体内存在着严重的氧化应激反应, 而模型加药组 MDA 含量减少, 表明 SE 能有效改善糖尿病小鼠体内的氧化应激。而且 SE 可以上调 Nrf2 及其下游基因, 说明 Nrf2 可以作为五味子治疗 DN 的一个重要靶点。

五味子为治疗 DN 中药组方中常见的一味中药, 临床上多用北五味子。其多种单体被证实在不同的疾病中都具有抗氧化损伤的作用。Li 等^[24]的研究表明, 五味子三萜类化合物可以通过上调 HO-1 的表达改善大鼠的氧化应激来预防酒精引起的肝损

伤。Lai 等^[25]研究表明, 五味子乙素可以通过降低氧化应激、抑制凋亡来改善环孢素 A 引起的肾毒性。也有研究表明, SE 能够增强肾脏基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 活性、促进细胞外基质 (ECM) 降解和减少 ECM 积聚。

综上所述, 本研究表明, SE 能够改善 db/db 小鼠的血糖和尿微量白蛋白, 改善肾脏病理改变, 延缓 DN 进展, 其保护机制可能与上调 Nrf2/HO-1 抗氧化通路减轻氧化应激损伤有关。

参考文献

- [1] Ilyas Z, Chaiban J T, Krikorian A. Novel insights into the pathophysiology and clinical aspects of diabetic nephropathy [J]. *Rev Endocr Metabolic Disorders*, 2017, 18(1): 21-28.
- [2] Themis Z, Fernando G, Balthazar Amely P S, et al. Diabetic nephropathy [J]. *Diabetol Metabol Syndr*, 2009, 1(1): 10.
- [3] Ni W J, Tang L Q, Wei W. Research progress in signalling pathway in diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Metabolism Res Rev*, 2015, 31(3): 221-233.
- [4] Aleksunes L M, Reisman S A, Yeager R L, et al. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 deletion impairs glucose tolerance and exacerbates hyperglycemia in type 1 diabetic mice [J]. *J Pharmacol Exper Ther*, 2010, 333(1): 140-151.
- [5] 杨 擎, 曲晓波, 李 辉, 等. 五味子化学成分与药理作用研究进展 [J]. *吉林中医药*, 2015, 35(6): 626-628.
- [6] Pu H J, Cao Y F, He R R, et al. Correlation between antistress and hepatoprotective effects of *Schisandra* lignans was related with its antioxidative actions in liver cells [J]. *Evidence-Based Compl Altern Med*, 2012, 2012: 1-7.
- [7] Brezniceanu M L, Lau C N, Chenier I, et al. Reactive oxygen species promote caspase-12 expression and tubular apoptosis in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(6): 943-954.
- [8] Zhang M, Liu M, Xiong M, et al. *Schisandra chinensis* fruit extract attenuates albuminuria and protects podocyte integrity in a mouse model of streptozotocin-induced diabetic nephropathy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1): 111-118.
- [9] Lehmann R, Schleicher E D. Molecular mechanism of diabetic nephropathy [J]. *Clin Chim Acta*, 2000, 297(1): 135-144.
- [10] Brownlee M. Biochemistry and molecular biology of diabetic complications [J]. *Nature*, 2001, 414(6865):

- 813-820.
- [11] Guillermina M D A, Pazarín-Villase L, Gerardo Y E F, *et al.* Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease [J]. *Diabetes Res*, 2016, doi: 10.1155/2016/7047238.
- [12] Manda G, Checherita A I, Comanescu M V, *et al.* Redox signaling in diabetic nephropathy: Hypertrophy versus death choices in mesangial cells and podocytes [J]. *Mediat Inflamm*, 2015, 2015(6): 1-13.
- [13] Koya D, Haneda M, Nakagawa H, *et al.* Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC beta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes [J]. *FASEB J*, 2000, 14(3): 439-447.
- [14] Munehiro K, Yoshio O, Daisuke K. Rodent models of diabetic nephropathy: Their utility and limitations [J]. *Int J Nephrol Renovasc Disease*, 2016, 14(9): 279-290.
- [15] Sies H. Biological redox systems and oxidative stress [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(17): 2181-2188.
- [16] Utsumi K, Yasuda F, Watanabe Y, *et al.* Effects of olmesartan and imidapril on the plasma adiponectin, P-selectin, and MDA-LDL levels of diabetic nephropathy patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(1/2): 348-349.
- [17] Copple I M. The Keap1-Nrf2 cell defense pathway—A promising therapeutic target? [J]. *Adv Pharmacol*, 2012, 63: 43-79.
- [18] Zhang H Q, Davies K J A, Forman H J. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging [J]. *Free Rad Biol Med*, 2015, 88(Pt B): 314-336.
- [19] Krajka-Kuźniak V, Paluszczak J, Baer-Dubowska W. The Nrf2-ARE signaling pathway: An update on its regulation and possible role in cancer prevention and treatment [J]. *Pharmacol Rep*, 2016, 69(3): 393-402.
- [20] Vento M. 312 Intermittent hypoxia: Effects on brain stem of oxidative stress and NRF2 transcription factor activation in a rat pup model [J]. *Arch Dis Childhood*, 2012, 97(Suppl 2): A91-A92.
- [21] Hwan K B, Soo L E, Ran C, *et al.* Protective effects of curcumin on renal oxidative stress and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetic nephropathy [J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(3): 664-673.
- [22] Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(7): 719-731.
- [23] Keigyou Y, Aki H, Kazusa I, *et al.* Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice [J]. *Genes Cells*, 2008, 13(11): 1159-1170.
- [24] Li B, Zhu L, Wu T, *et al.* Effects of triterpenoid from *Schisandra chinensis* on oxidative stress in alcohol-induced liver injury in rats [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(2): 803-811.
- [25] Lai Q, Luo Z, Wu C, *et al.* Attenuation of cyclosporine A induced nephrotoxicity by schisandrin B through suppression of oxidative stress, apoptosis and autophagy [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 52(11): 15-23.